

**Einfluß der extrazellulären Kaliumkonzentration
auf Ruhepotential, Schwellenreizstromstärke und
Zeitkonstante (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung)
einzelner Muskelfasern. - Vergleichende Unter-
suchungen am isolierten Zwerchfell in vitro von
gesunden Ratten und solchen mit experimenteller
Niereninsuffizienz.**

Heiner Menninger

1967

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. H. Schwiegk

Einfluß der extrazellulären Kaliumkonzentration auf Ruhe
potential, Schwellenreizstromstärke und Zeitkonstante
(Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung) einzelner Muskelfasern.
- Vergleichende Untersuchungen am isolierten Zwerchfell in
vitro von gesunden Ratten und solchen mit experimenteller
Niereninsuffizienz.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin ver-
fasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig-
Maximilians-Universität zu München vorgelegt

von

Heiner Menninger
aus Bonn-Duisdorf

München 1967



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. G. Riecker

Mitberichterstatter: Professor Dr. H. Schwiegk

Dekan: Professor Dr. F. Holle

Tag der mündlichen Prüfung: 14. November 1967

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Prof. Dr. G. Riecker danke ich sehr für die Überlassung
des Themas, Dr. H.-D. Bolte für die vielen Hinweise, Frau
E. Sonnenschein und Fräulein S. Reiher für die technische
Assistenz.

Inhaltsverzeichnis:

I. Bezeichnungen	S. 2
II. Einleitung	S. 3
A) Herkömmliche Methoden zur Untersuchung des Wasser- und Elektrolythaushaltes	S. 3
B) Elektrophysiologische Muskelpunktion	S. 4
1) Methodische Vorteile	S. 4
2) Elektrophysiologische Grundlagen	S. 4
a) Ruhepotential	S. 4
b) Schwellenreizstromstärke	S. 6
c) Zeitkonstante und Modellverhalten der Zellmembran	S. 8
d) Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung	S. 14
3) Bisherige Befunde	S. 16
C) Fragestellung	S. 18
D) Anhang	S. 19
III. Methodik	S. 22
A) Anordnung zur Messung von Ruhepotential, Schwellenreizstromstärke und Zeitkonstante (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung)	S. 22
B) Punktionsverfahren und Auswertung	S. 24
C) Zwerchfellanalyse	S. 26
D) Operationsmethode zur Erzeugung einer experimentellen Niereninsuffizienz durch Ureterligatur	S. 27
IV. Ergebnisse	S. 28
V. Diskussion	S. 40
VI. Zusammenfassung	S. 52
VII. Literaturverzeichnis	S. 55

I. Bezeichnungen:

C	Kapazität eines Kondensators
E	Theoretisches Diffusionspotential
E_{krit}	Kritisches Membranpotential
E_m	Membranruhepotential
F	Faraday-Konstante
i_C	Strom durch einen Kondensator
i_R	Strom durch einen Ohm'schen Widerstand
$i_{ges} = i_C + i_R$	Gesamtstrom durch ein RC-Glied der Abb. 1
I	Rechteckimpuls
I_s	Schwellenreizstromstärke
k_n, K_n	Dimensionslose Konstanten
$[K^+]_e, [Na^+]_e$	Extrazelluläre Konzentration der Kalium- bzw. Natriumionen
$[K^+]_i, [Na^+]_i$	Intrazelluläre Konzentration der Kalium- bzw. Natriumionen
p_K, p_{Na}	Permeabilitätsfaktoren der Zellmembran für Kalium- und Natriumionen
R	Ohm'scher Widerstand
$\bar{R}$	Allgemeine Gaskonstante
R_m	Ruhemembranwiderstand = "input resistance"
t	Zeit
T	Absolute Temperatur
V_s	Kritische Änderung des Membranruhepotentials
v (t)	Wechselspannung
τ	Zeitkonstante eines RC-Gliedes der Abb. 1
τ_{sl}	Zeitkonstante (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung)

II. Einleitung:

- A) Herkömmliche Methoden zur Untersuchung von Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes.

Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes lassen sich mit Messungen der Serumelektrolyte, chemischen Muskelanalysen und Bilanzuntersuchungen nur unzureichend erfassen, weil sich auf Grund derartiger Messungen keine sicheren Aussagen über die intra/extrazelluläre Elektrolytverteilung machen lassen. Erst die Kationenanalyse von Erythrozyten hat auch die zellulären Wasser- und Elektrolytstörungen des Menschen einer genaueren Betrachtung zugänglich gemacht. So lassen sich mit Hilfe dieser Methode Bilanz- und Verteilungsstörungen von Ionen gegeneinander abgrenzen (RIECKER, 1961). Allerdings ist die rote Blutzelle nicht ohne weiteres mit anderen Zellen des Körpers vergleichbar. Der Erythrozyt zeichnet sich beispielsweise gegenüber den Muskelzellen durch einen sehr niedrigen, im wesentlichen glukolytischen Stoffwechsel, einen kleinen Ionenumsatz, eine geringe Kationenpermeabilität der Zellmembran und durch ein wesentlich niedrigeres Membranruhepotential aus. Deshalb sind an der Zellgrenzfläche von Erythrozyten erhobene Befunde nur unter bestimmten Voraussetzungen auf die Masse der anderen Körperzellen übertragbar. Außerdem können mit dieser Methode keine detaillierten Aussagen über den Funktionszustand der Erythrozytenmembran im Wasser- und Elektrolytstoffwechsel gemacht werden, weil mit ihr nur stationäre Elektrolytverteilungen zu beiden Seiten der Zellmembran gemessen werden.

B) Elektrophysiologische Muskelpunktion.

1) Methodische Vorteile.

Die in dieser Arbeit angewandte Methode der elektrophysiologischen Muskelpunktion kann gegenüber den genannten Untersuchungsmöglichkeiten auf zwei Vorteile verweisen. Muskelzellen sind zur Beschreibung allgemeiner Veränderungen im intra/extrazellulären Elektrolythaushalt besonders gut geeignet, weil die Muskelmasse einen repräsentativen Anteil des Körpergewichtes ausmacht (nach COMAR und BRONNER, 1964, beim Menschen etwa die Hälfte) und einen beträchtlichen Anteil der Körperelektrolyte enthält (nach ELKINTON und DANOWSKI, 1955, z. B. über 50 % des austauschbaren Kaliums). Darüber hinaus kann man mit dieser Methode elektrophysiologische Größen messen, die in übersichtlicher Weise von den ionalen Elementarprozessen an der Zellmembran abhängen: Ruhepotential, Schwellenreizstromstärke und Zeitkonstante.

2) Elektrophysiologische Grundlagen.

- a) Ruhepotential: Zwischen dem Innern einer Zelle und der umgebenden Flüssigkeit bestehen ganz bestimmte Unterschiede in der Ionenzusammensetzung. So betragen am Skelettmuskel der Ratte die intrazellulären Konzentrationen von Kalium 152 mval, von Natrium 16 mval und von Chlor 5 mval pro Liter Zellwasser gegenüber Konzentrationen im Plasmawasser für Kalium von 6,4 mval/l, für Natrium von 150 mval/l und für Chlor von 119 mval/l

(CONWAY und HINGERTY, 1946). Dieser Ionenverteilung entspricht ein Diffusionspotential, das der von NERNST gefundenen Beziehung gehorcht:

$$(1) \quad E = \frac{\bar{R} T}{F} \ln \frac{c_1}{c_2}$$

worin c_1 und c_2 die Konzentrationen eines Elektrolyten diesseits und jenseits der Membran sind. Auf die Verhältnisse an der Zelle übertragen errechnet sich demnach das Kaliumdiffusionspotential der Zellmembran zu

$$(2) \quad E = \frac{\bar{R} T}{F} \ln \frac{[K^+]_i}{[K^+]_e}$$

Die nach der NERNST'schen Beziehung aus den intra- und extrazellulären Kaliumkonzentrationen zu errechnenden Potentialwerte stimmen mit den gemessenen Membranruhepotentialen gut überein (HODGKIN und HOROWICZ, 1959, an der Skelettmuskelzelle vom Frosch; RÖHL, 1964, am Rattenzwerchfell), allerdings nur bei extrazellulären Kaliumkonzentrationen über 10 mval/l. Um deshalb neben den absoluten Ionenkonzentrationen auch die bei

niederen extrazellulären Kaliumwerten immer mehr ins Gewicht fallende relative Permeabilität von Natrium zu berücksichtigen, entwickelten die Untersucher folgende Gleichung:

$$(3) \quad E = \frac{\bar{R} T}{F} \ln \frac{[K^+]_i}{[K^+]_e + p_{Na} [Na^+]_e}$$

Sie setzen $p_{Na} = 0,01$ und kamen auch für die niedrigen Kaliumwerte in der Extrazellulärflüssigkeit den biologischen Potentialwerten erstaunlich nahe. Demnach ist das Ruhepotential erstens als Parameter der absoluten Ionenkonzentrationen und zweitens der relativen Membranpermeabilität der an seiner Entstehung beteiligten Ionen zu verstehen.

- b) Schwellenreizstromstärke: Wird das Membranruhepotential E_m um einen bestimmten Betrag V_s , die sog. kritische Änderung des Membranruhepotentials, auf das kritische Membranpotential E_{krit} depolarisiert ($V_s = E_m - E_{krit}$), kommt es an der Muskelzelle zur Auslösung eines Aktionspotentials (SHANES, 1958). Die kritische Membranpotentialänderung, die physiologischerweise auf nervalem Wege und durch Vermittlung der motorischen Endplatte erzeugt wird, kann experimentell durch

einen transmembranösen depolarisierenden Gleichstrom I hervorgerufen werden. Die niedrigste Stromstärke, die gerade eben zu einem Aktionspotential führt, nennt man die Schwellenreizstromstärke I_s . Sie ist also die niedrigste Stromstärke, die das Membranruhepotential auf das Niveau des kritischen Membranpotentials zu erniedrigen vermag. Nach JENERICK (1953) ist die Schwellenreizstromstärke mit Membranwiderstand R_m und kritischer Membranpotentialänderung ($V_s = E_m - E_{krit}$) in Form der Ohm'schen Beziehung verknüpft:

$$(4) \quad V_s = R_m I_s$$

bzw.

$$(5) \quad I_s = (E_m - E_{krit})/R_m$$

Die Gleichung erlaubt die für uns wichtige Feststellung, daß die Schwellenreizstromstärke ein Parameter der Membranleitfähigkeit ist. Dies ergibt sich zum einen aus der Tatsache, daß die Leitfähigkeit dem reziproken Wert des in der Gleichung enthaltenen Ruhemembranwiderstandes R_m entspricht. Zum anderen beruht dies auf einem bei SHANES (1958) genannten Zusammen-

hang, demzufolge die Membrandepolarisierung dann das Niveau von E_{krit} erreicht, wenn sich die vorgegebenen Leitfähigkeiten der Zellmembran für Kalium- und Natriumionen unter dem Einfluß eines elektrischen Reizstromes einander angleichen. Ändern sich die absoluten Ausgangswerte der einzelnen Leitfähigkeiten, wird der reizbedingte Gleichgewichtszustand zwischen den Leitfähigkeiten von veränderten Werten für das kritische Membranpotential und somit auch der Schwellenreizstromstärke begleitet.

c) Zeitkonstante und Modellverhalten der Zellmembran:

Ein vereinfachtes, aber für unsere Zwecke brauchbares Modell für das elektrische Verhalten der Zellmembran ist in Abbildung 1 dargestellt. Es zeigt ein RC-Glied

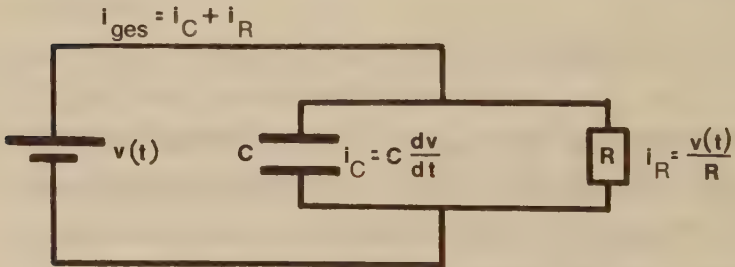


Abb.1: Schematische Darstellung eines RC-Gliedes.

mit paralleler Schaltung von Kondensator C und Ohm'schem Widerstand R. Aus der Summe der durch C und R fließenden Teilströme i_C und i_R ergibt sich der durch das System fließende Gesamtstrom:

$$(6) \quad i_{\text{ges}} = i_C + i_R = C \frac{dv}{dt} + \frac{v(t)}{R}$$

Nun soll i_{ges} in Analogie zum experimentellen Reizstrom einen konstanten Betrag I einnehmen, so daß

$$(7) \quad I = C \frac{dv}{dt} + \frac{v(t)}{R}$$

ist.

Dann kann die am RC-Glied anliegende, den Strom erzeugende Spannung nicht ebenfalls konstant sein, weil sonst mit zunehmender Aufladung des Kondensators der Teilstrom i_C und damit auch der Gesamtstrom I entgegen unserer Absicht immer kleiner würde; die Spannung muß vielmehr größer werden, und zwar in dem Maße, wie der sich aufladende Kondensator eine mit der Zeit anwachsende Gegenspannung erzeugt. Mathematisch Genaues erfahren wir, wenn wir Gl. 7 nach der Spannung auflösen. Setzen wir Kapazität, Widerstand und - wie oben schon vorweggenommen den Ge-

samtstrom - als konstante Größe voraus, erhalten wir als Ergebnis eine Exponentialfunktion:

$$(8) \quad v(t) = IR (1 - e^{-t/RC})$$

(vergl. TASAKI, 1959, Herleitung s. Anhang, S. 19). Eine zeichnerische Darstellung dieser Gleichung findet sich in Abbildung 2. Sie zeigt, wie in einem RC-Glied der Abbildung 1 bei konstantem C, R und I die Spannung exponentiell mit der Zeit zunehmen muß. Und zwar ist beim Einschalten des Stromflusses die strombedingte Spannung Null, erfährt dann den erwarteten Anstieg und nähert sich immer mehr ihrem Endbetrag IR ; die abszissenparallele Gerade, die durch den Punkt $v(t) = IR$ der Ordinaten-

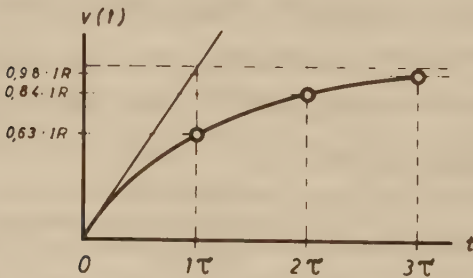


Abb. 2: Zeichnerische Darstellung von Gl. 8

achse läuft, ist Asymptote des Einschwingvorganges. Aus Gleichung 8 ist ferner ersichtlich, daß bei vorgegebenem IR der zeitliche Spannungsverlauf in unserem RC-Glied nur noch von dem Produkt aus Ohm'schem Widerstand und Kapazität variiert wird, und zwar zeigt Abbildung 3 anschaulich, daß dieses Produkt die Krümmung der Kurve, d. h. die in der Zeit erfolgende Anstiegsänderung festlegt. Man beachte, daß der Einschwingvorgang nicht unabhängig durch Ohm'schen Widerstand und Kapazität, sondern von ihrem Produkt markiert wird. Das Produkt $\tau = RC$ ist deshalb eine allgemeine Konstante des RC-Gliedes; da es die Dimension der Zeit trägt und den Verlauf einer Kurve in der Zeit bestimmt, ist es verständlich, wenn man es als die Zeitkonstante

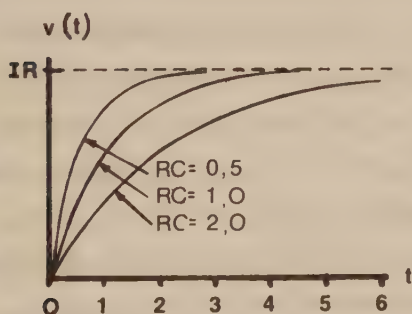


Abb. 3: Drei Kurvenverläufe vom Typ der Gl. 8 bei konstantem IR, aber verschiedenem RC.

benennt. Die praktische Bedeutung der Zeitkonstante verstehen wir zum einen dann, wenn wir den Anstieg der e-Funktion aus Abbildung 2 im Nullpunkt bestimmen: Der Anstieg errechnet sich wegen

$$(9) \quad v'(t) = \frac{IR}{RC} e^{-t/RC}$$

zu

$$(10) \quad v'(t=0) = \frac{IR}{RC} = \frac{IR}{\tau}$$

Wir sehen, daß die Zeitkonstante zusammen mit derjenigen Spannung (IR), die "am Ende" des Einschwingvorganges (d.h. für $t \rightarrow \infty$) über dem RC-Glied liegt, in den Differentialquotienten der Gl.10 eingeht, aus dem sich der initiale Anstieg (d.h. für $t=0$) darstellen läßt. Zum anderen errechnen wir aus Gl.8, daß nach einer der Zeitkonstanten entsprechenden Zeitspanne die Spannung auf 63 %, nach der Zeit 2 auf 84 %, nach der Zeit 3 auf 98 % usf. ihres Endbetrages angewachsen ist. Aus diesen Daten ergeben sich Hilfslinien für die zeichnerische Darstellung eines exponentiellen Kurvenverlaufs, s. Abb. 2 (vergl. WHITFIELD, 1960).

Übertragen wir einmal theoretisch unsere physikalische Modellvorstellung auf die Skelettmuskelzelle.

Dann entspricht die Zellmembran in Hinsicht auf die konstante und scheinbar stationäre intra/extrazelluläre Ionenverteilung einem elektrostatisch aufgeladenen RC-Glied (vergl. TASAKI, 1959); Ohm'scher Widerstand und Kapazität des RC-Gliedes bedeuten elektrischer Widerstand R_m bzw. Kapazität C der Zellmembran; die vom aufgeladenen RC-Glied ableitbare initiale Spannung entspricht dem Membranruhepotential und der konstant zu haltende Gesamtstrom I dem experimentellen Reizstrom. Unter solchen Voraussetzungen folgt die während eines Reizes stattfindende Depolarisierung des Membranruhepotentials dem von Gl.8 beschriebenen exponentiellen Kurvenverlauf. Bei genügend großer Reizstromstärke erreicht sie das kritische Membranpotential und es kommt zur Auslösung eines Aktionspotentials. Für uns ist wichtig, daß die Krümmung des genannten Kurvenverlaufs durch eine Zeitkonstante gekennzeichnet ist, die membranspezifische Größe hat. Da die Zeitkonstante RC über die Membrankapazität mit dem Membranwiderstand verknüpft ist, wird ihre experimentelle Bestimmung unsere Kenntnisse von der Membranleitfähigkeit bereichern.

d) Die Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung: Die kritische Änderung V_s des Membranruhepotentials wird bei experimenteller Reizung durch Rechteckreizströme I gemäß Gl.8 in einem exponentiellen Kurvenverlauf erzeugt:

$$(11) \quad V_s = IR_m (1 - e^{-t/R_m C})$$

Da bei Reizung mit dem Schwellenreizstrom I_s die Depolarisierung für $t \rightarrow \infty$ den Potentialwert von V_s überspannt, läßt sich V_s mit Gl.8 formulieren als

$$(12) \quad V_s = \lim_{t \rightarrow \infty} I_s R_m (1 - e^{-t/R_m C})$$

so daß

$$(13) \quad V_s = I_s R_m$$

ist.

Dann ergibt sich aus den Gl. 11 und 13

$$(14) \quad I_s R_m = IR_m (1 - e^{-t/R_m C})$$

bzw. die BLAIR'sche Gleichung

$$(15) \quad (I - I_s) / I = e^{-t/R_m C}$$

Diese Beziehung gibt die Zuordnung von Reizstromstärke I und jeweiliger Latenzzeit t (d.i. die Zeit vom Reizbeginn bis zum Anfang des Aktionspotentials) unter Berücksichtigung der Schwellenreizstromstärke wieder. Da sie das Produkt $R_m C$ enthält, benutzen wir sie zur Bestimmung der "Zeitkonstante τ_{s1} (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung)" s.Kap. Methodik, S.26.

BLAIR (1932) hat diese nach ihm benannte Beziehung als erster formuliert. Er entwickelte sie allerdings nicht auf dem Boden einer physikalischen Modellvorstellung, sondern knüpfte ihre Herleitung an zwei Hypothesen: Der reizende Gleichstrom baut an der Zellmembran (erstens) einen sog. Erregungszustand (state of excitation) p auf, dessen Anstieg in der Zeit dp/dt ("rate of attainment") direkt proportional zur erregenden Spannung ist. Gleichzeitig kommt es (zweitens) zu einer entgegengesetzt wirkenden Reaktion des Gewebes ("tendency of the tissue to a reaction"), die ihrerseits proportional zu p wächst, so daß die Differentialgleichung $dp/dt = KV - kp$ die beiden Grundannahmen wiedergibt. K und k sind Konstanten und V die angelegte Gleichspannung. Auch aus dieser Gleichung läßt sich die Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung (Gl.8) ableiten (s. RAMSEY, 1960).

3) Bisherige Befunde.

Nach unseren bisherigen Kenntnissen äußern sich allgemeine Wasser- und Elektrolytstörungen an der Zellmembran hauptsächlich in Veränderungen (1) des intra/extrazellulären Elektrolytgradienten und (2) der Membranpermeabilitäten für einzelne Ionenarten. Wir können deshalb zwei Gruppen von Krankheiten dieser Zellstoffwechselbeziehungen unterscheiden.

Zur ersten gehört das bei allgemeinem Kaliummangel auftretende Hypokaliämiesyndrom. RIECKER, BOLTE und RÖHL (1964) haben bei Patienten mit diesem klinischen Erscheinungsbild ein Ruhepotential von 102 mV gegenüber einem Normalwert von 87,7 mV bei gesunden Kontrollpersonen gemessen. Diese Veränderung fassen die Untersucher in erster Linie als eine Kaliumhyperpolarisation infolge Vergrößerung des intra/extrazellulären Kaliumgradienten auf; setzt man nämlich in die HODGKIN-HOROWICZ-Gleichung (Gl.3, S.6) die intra- und extrazellulären Kalium- bzw. Natriumkonzentrationen ein, wie sie unter den Meßbedingungen bestanden, errechnet sich unter der Voraussetzung unveränderter Permeabilitäten ein Potentialwert (97,4 mV), der dem gemessenen recht nahekommt. Deshalb kommt für die Deutung des Befundes eine Änderung der Membranpermeabilität erst in zweiter Linie in Betracht.

Zur zweiten Gruppe gehört die klinische Niereninsuffizienz.

Bei ihr findet sich ein Ruhepotential von 65,8 mV (RIECKER und BOLTE, 1964). Aber obwohl bei Niereninsuffizienz der Serumkaliumspiegel gegenüber dem Normalwert ansteigen und aus Experimenten von GIEBISCH, BERGER und PITTS (1954) eine verminderte intrazelluläre Kaliumkonzentration erschlossen werden kann, reicht die daraus resultierende Änderung des Kaliumgradienten im Gegensatz zu den Messungen beim Hypokaliämiesyndrom bei weitem nicht aus, um den genannten Potentialwert rechnerisch deuten zu können. So errechnet sich mit der HODGKIN-HOROWICZ-Gleichung aus einer Verschiebung des intra/extrazellulären Kaliumgradienten von normal 150 mVal : 4,3 mVal nach 130 mVal : 4,8 mVal Kalium pro Liter Zell- bzw. Plasmawasser bei einer extrazellulären Natriumkonzentration von 129 mVal/l eine Erniedrigung des Ruhepotentials um nur 6 mV. Zur Klärung der wesentlich stärkeren Hypopolarisation (87,7 mV - 65,8 mV = 21,9 mV) müssen deshalb hauptsächlich Vergrößerungen der Membranleitfähigkeit für einzelne Ionenarten in Rechnung gestellt werden, während Abflachungen des Elektrolytgradienten, z.B. des Kaliums, erst in zweiter Linie in Betracht kommen können. Analoge Messungen des Ruhepotentials an Ratten mit experimenteller Niereninsuffizienz von HAUGG (1964) führen zu dem selben Schluß. Im gleichen Sinne spricht die von BOLTE, MENNINGER und RIECKER (1966) an niereninsuffizienten Ratten gemessenen Erniedrigung des elektrischen Membranwiderstandes. Auch die Zunahme der Zeitkon-

stanten (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung) bei ureterligierten und bei nephrektomierten Ratten gegenüber dem Meßbefund von gesunden Kontrolltieren spricht für eine Leitfähigkeitsänderung (RONNEBERGER 1966).

C) Fragestellung.

Die erwähnten Befunde beim Kaliummangel-Syndrom und bei der Niereninsuffizienz zeigen uns, daß Verschiebungen der intraextrazellulären Kaliumverteilung mit einer mehr oder weniger stark ausgeprägten Änderung der Membranleitfähigkeit für einzelne Ionenarten vergesellschaftet sind. Es steht deshalb die Frage offen, (erstens) ob die extrazelluläre Kaliumkonzentration im gesunden Organismus einen Einfluß auf die absolute bzw. relative Membranleitfähigkeit hat. Weiterhin bleibt (zweitens) zu klären, wie sich Änderungen der extrazellulären Kaliumkonzentration auf die Leitfähigkeit einer durch Niereninsuffizienz geschädigten Zellmembran auswirken. Wir führten deshalb an Zwerchfellmuskulzellen gesunder und experimentell niereninsuffizienter Ratten Messungen des Ruhepotentials, der Schwellenreizstromstärke und der Zeitkonstante (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung) durch. Zur Deutung unserer Befunde nahmen wir weiterhin bei einigen Tieren Messungen der intrazellulären Kaliumkonzentration und des Gewebswassers vor. Von den Meßwerten erwarten wir uns Rückschlüsse auf das Zusammenwirken von Elektrolytgradienten und Ionenleitfähigkeit der Zellmembran unter physiologischen und experimentell-pathologischen Bedingungen.

D) Anhang: Herleitung von Gl.8, S. 10.

Die Lösung einer linearen Differentialgleichung erster Ordnung

$$Q(x) = \frac{dy}{dx} + P(x)y$$

heißt

$$y = e^{-\int P dx} \cdot \left[\int Q(x) \cdot e^{\int P dx} dx + K_1 \right]$$

(BRONSTEIN und SEMENDJAJEW, 1966).

Die nach

$$\frac{I}{C} = \frac{dv}{dt} + \frac{v(t)}{RC}$$

modifizierte Gl.7 von S. 9 besitzt die Form einer solchen linearen Differentialgleichung, wenn man für

$$\frac{I}{C} = Q(x), v(t) = y, \frac{1}{RC} = P(x) \text{ und } t = x$$

setzt. Sie hat somit die Lösung

$$v(t) = e^{-\int \frac{1}{RC} dt} \cdot \left[\int \frac{I}{C} \cdot e^{\int \frac{1}{RC} dt} dt + K_1 \right].$$

I, R und C müssen dabei konstante Größen sein. Dann ist:

$$v(t) = e^{-\left(\frac{t}{RC} + K_1\right)} \cdot \left[K_1 + \frac{I}{C} \int e^{\frac{t}{RC} + K_2} dt \right].$$

Hieraus ergibt sich für

$$K_1 = e^{K_1},$$

$$K_2 = e^{K_2},$$

$$K_4 = \frac{K_1}{K_2 \cdot IR} + K_3$$

$$v(t) = k_1 \cdot e^{-\frac{t}{RC}} \cdot \left[K_1 + \frac{k_2 \cdot I}{C} \int e^{\frac{t}{RC}} dt \right]$$

$$v(t) = k_1 \cdot e^{-\frac{t}{RC}} \cdot \left[K_1 + \frac{k_2 \cdot I}{C} \cdot RC \left(e^{\frac{t}{RC}} + k_3 \right) \right]$$

$$v(t) = k_1 \cdot e^{-\frac{t}{RC}} \cdot \left[K_1 + k_2 \cdot IR \cdot e^{\frac{t}{RC}} + k_2 \cdot k_3 \cdot IR \right]$$

$$v(t) = k_1 K_1 \cdot e^{-\frac{t}{RC}} + k_1 k_2 \cdot IR + k_1 k_2 k_3 \cdot IR \cdot e^{-\frac{t}{RC}}$$

$$v(t) = e^{-\frac{t}{RC}} (k_1 K_1 + k_1 k_2 k_3 \cdot IR) + k_1 k_2 IR$$

$$v(t) = k_1 k_2 \cdot IR \cdot e^{-\frac{t}{RC}} \left(k_3 + \frac{K_1}{k_2 \cdot IR} \right) + k_1 k_2 \cdot IR$$

$$v(t) = k_1 k_2 k_4 IR \cdot e^{-\frac{t}{RC}} + k_1 k_2 \cdot IR$$

$$(7a) \quad v(t) = k_1 k_2 \cdot IR (1 + k_4 \cdot e^{-\frac{t}{RC}})$$

Da im RC-Glied bei angelegtem Rechteckimpuls I der Strom nach Aufladung des Kondensators nur noch durch den Ohm'schen Widerstand fließt und somit entsprechend der Ohm'schen Beziehung

$$v(t \rightarrow \infty) = IR,$$

ergibt sich aus Gl.7a für $t \rightarrow \infty$

$$k_1 k_2 = 1$$

und somit eine Vereinfachung zu

$$(7b) \quad v(t) = IR (1 + k_4 \cdot e^{-\frac{t}{RC}}).$$

Da zu Impulsbeginn die reizbedingte Spannung noch Null,
also

$$v(t = 0) = 0$$

ist, können wir aus Gl. 7b

$$k_4 = -1$$

errechnen und finden so die gesuchte Beziehung:

$$(8) \quad v(t) = IR \left(1 - e^{-\frac{t}{RC}} \right)$$

III. Methodik:

A) Anordnung zur Messung von Ruhepotential, Schwellenreizstromstärke und Zeitkonstante (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung).

Eine Schaltskizze unserer Apparatur ist in Abb. 4 dargestellt. Die Brückenschaltung (FRANK und FUORTES, 1956) ermöglicht uns, mit nur einer intrazellulären Elektrode die Muskelzelle zu reizen und gleichzeitig die zellulären Potentiale zu messen. Sie besteht aus den im Viereck ge-

geschalteten Widerständen $R_1 = 100 \text{ Megohm}$, $R_2 = \text{Quellwiderstand}$ (d.i. Gesamtwiderstand von Elektrode und punktierter Zelle), $R_3 = 22 \text{ Kiloohm}$ und R_4 . Man kann den Widerstand R_4 so gegen die übrigen abgleichen, dass eine über den Ecken I/III angelegte konstante Spannung über den Ecken II/IV nicht in Erscheinung tritt (Einzelheiten s. WESTPHAL, 1953). Das bedeutet für unsere Versuche, daß die Messung von Membranpotentialen, die über den Ecken II/IV erfolgt, von der an den Ecken I/III anliegenden Rechteckkreisspannung

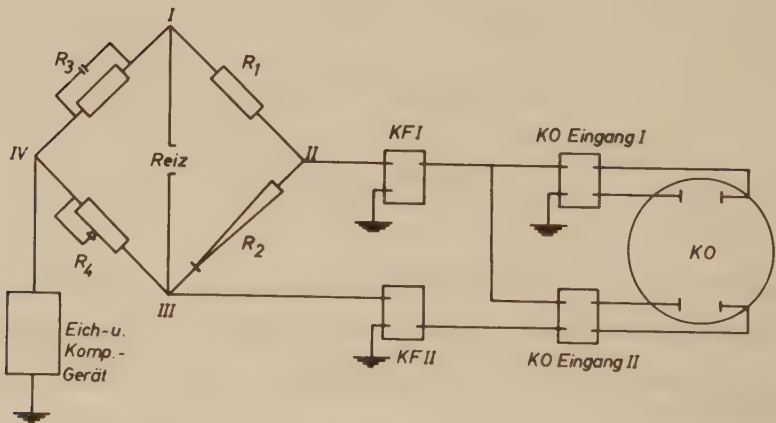


Abb. 4: Brückenschaltung unserer Meßanordnung. $R_2 = \text{Quellwiderstand}$ (d.i. Gesamtwiderstand von Elektrode und punktierter Zelle), $R_1 = \text{Vergleichswiderstand von } 100 \text{ M}\Omega$, $R_3 = \text{Widerstand von } 22 \text{ k}\Omega \text{ mit paralleler Kapazität}$, $R_4 = \text{Regelwiderstand von maximal } 10 \text{ k}\Omega$, KF = Kathodenfolger, KO = Kathodenstrahloszilloskop.

nicht störend beeinflusst wird. Die Reizspannung wird als Differenzspannung an den beiden Meßelektroden mit Hilfe von zwei Kathodenfolgerverstärkern über Eingang II des Kathodenstrahloszillographen (Ko) gemessen. Die zellulären Potentiale werden unter Verwendung eines Kathodenfolgerverstärkers (Kf I) von Eingang I des Kathodenstrahloszillographen über Ecke IV gegen Masse registriert. Bei der Messung des Ruhepotentials wird die elektrische Leitung zwischen den Ecken I/II unterbrochen.

Intrazelluläre und extrazelluläre Elektrode bestehen im Prinzip aus Glasröhrchen, die mit 3-molarer KCl-Lösung angefüllt sind und in die ein mit Silberchlorid überzogener Silberdraht eintaucht. Die Punktionselektroden sind Mikroglastroden nach LING und GERARD (1949). Es handelt sich dabei um Glasröhrchen, deren Spitze mit einem unter Federzug arbeitenden Elektrodenziehgerät auf einen Durchmesser von $0,5\mu$ und darunter ausgezogen werden. Man füllt sie dann über eine Methanol- und eine aqua bidest.-Phase mit der 3-molaren KCl-Lösung auf. Die von uns verwandten Elektroden haben einen elektrischen Widerstand von 2- 12 Megohm. Die Kathodenfolgerverstärker haben einen Eingangswiderstand von mindestens 1000 Megohm, eine Eingangskapazität von 0 ± 5 pF regelbar und einen Verstärkungsgrad von 1,02 (s.hierzu RIECKER, BOLTE und von BUBNOFF, 1963).

Die Größe des Gitterstromes, der nach BURKHARDT (1957) bei Potentialmessungen an biologischen Substraten einen Wert von

10^{-10} Amp nicht überschreiten darf, wird durch Kurzschließen des Kathodenfolgereingangs über einen Widerstand von 10^8 Ohm an Masse ermittelt. Ein zu hoher Gitterstrom wird mit einem Potentiometer im Kathodenstromkreis des Verstärkers auskompensiert (RIECKER, BOLTE und von BUBNOFF, 1963). Die Lage des elektrischen Nullpunktes wird durch Kurzschließen des Kathodenfolgereingangs an Masse bestimmt. Der Quellwiderstand wird im Brückengleichgewicht nach der Gleichung $R_2 = R_1 R_4 / R_3$ (WESTPHAL, 1953) bestimmt. Die Kompensation eines Elektrodenpotentials erfolgt mit Hilfe einer Potentiometerschaltung durch Batteriespannung im Eich- und Kompensationsgerät.

B) Punktionsverfahren und Auswertung.

Zur Vornahme einer Einzelfaserpunktion am isolierten Rattenzwerchfell wird narkotisierten Rattenweibchen eine Hälfte des unteren Thoraxringes mit dem entsprechenden Zwerchfellanteil herausgeschnitten und sofort in eine Plexiglaskammer mit vorbereiteter Badelösung verbracht. Dort wird das Präparat auf einem PVC-Boden mit Stecknadeln unter leichter Dehnung über einen 0,4 cm hohen Steg ausgespannt. Die pleurale Seite zeigt nach oben. Während des Versuchs fließt ständig aus einem Vorratsgefäß mit Carbogen (95 % O_2 und 5 % CO_2) gesättigte Frischlösung nach. Die verwandten Spüllösungen unterscheiden sich durch ihre Konzentration an Kaliumionen und haben folgende Zusammensetzung:

KCl:	0,0615-0,62 g/L
NaCl	6,900 g/L
CaCl	0,280 g/L
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,287 g/L
NaHCO ₃	2,090 g/L
KH ₂ PO ₄	0,160 g/L
Glucose	1,200 g/L
Inulin	10,000 g/L

Die Badetemperatur wird auf 35,0 - 37,0°C konstant gehalten.

Der Abfluß erfolgt durch ein Überlaufrohr.

Zur Punktion einzelner Muskelzellen haltet man eine Mikroelektrode am Arm eines Mikromanipulators (LEITZ, Wetzlar) und führt den Silberchlorid/Silberdraht in sie ein. Dann wird in beschriebener Weise der elektrische Nullpunkt kontrolliert, ein etwaiges Elektrodenpotential auskompensiert und der Elektrodenwiderstand gemessen. Bei weiterem Tieferdrehen der Elektrode zeigt ein Potentialsprung auf dem Schirm des Kathodenstrahloszillographen an, daß die Elektroden spitze intrazellulär liegt. Nun wird das Ruhepotential gemessen, das Brückengleichgewicht eingestellt und der Quellwiderstand bestimmt. Dann wird die Zelle elektrisch gereizt. Gleichzeitig öffnet man den Verschluss einer Filmkamera, die auf den Schirm des Kathodenstrahloszillographen zentriert ist; sie registriert die in ihrer Abhängigkeit von der Zeit angezeigten Reizspannungen zusammen mit den jeweiligen biologischen Potentialen.

Zur Messung der Schwellenreizstromstärke und der Zeitkonstanten

sl leiten wir in regelmäßigen Abständen von 1 sec depolarisierende Rechteckreize von 14 msec Dauer und mit schrittweise

steigender Stromstärke - von Null angefangen - durch die Punktionselektrode. Der durch die Zelle fließende Reizstrom errechnet sich aus der jeweiligen Reizspannung, die wir dem Filmmaterial entnehmen, und dem Quellwiderstand, und zwar ergibt sich nach der Ohm'schen Beziehung aus dem Quotienten: Reizspannung/Quellwiderstand direkt die Größe des fließenden Stromes.

Die niedrigste Stromstärke, durch die ein Aktionspotential zu erzielen ist, verwerten wir als Schwellenreizstromstärke.

Zur Bestimmung der Zeitkonstanten τ_{sl} ermitteln wir aus den überschwelligen Reizstromstärken I und der Schwellenreizstromstärke I_s der punktierten Muskelzelle die Werte für $(I-I_s)/I$, ordnen sie halblogarithmisch in einem Koordinatensystem den jeweiligen Latenzzeiten t zu und verbinden die so erhaltenen Punkte zu einer Geraden. Sie verläuft durch einen Punkt, der durch die Koordinaten $t = 0$ und $(I-I_s)/I = 1$ gekennzeichnet ist. Aus dieser Darstellung läßt sich die Zeitkonstante unter Verwendung von Gl.15, S.14, als denjenigen Zeitabschnitt $t_1 = \tau_{sl}$ in msec ablesen, die dem Ordinatenwert $(I_1-I_s)/I_1 = e^{-\tau_{sl}/\tau_{sl}} = e^{-1} \approx 0,368$ entspricht. (Abb. s.b. RONNEBERGER, 1966).

1) Zwerchfellanalyse.

40 bis 70 Minuten nach Badebeginn wird das Zwerchfellstück der Badelösung entnommen, auf kalium- und natriumfreiem Filtrierpapier abgetupft, eingewogen und bis zur Gewichtskonstanz bei 80°C

eingetrocknet. Danach wird die Differenz aus Trocken- und Feuchtgewicht bestimmt und in Prozent vom Feuchtgewicht umgerechnet ("Gewebswasser").

Zur Bestimmung der intrazellulären Kaliumkonzentration geht man im Prinzip folgendermaßen vor: Durch Auskochen des Zwerchfellstückes in einer definierten Menge Aqua bidest. bringt man das gesamte Zellkalium in Lösung. Von der flammenphotometrisch zu messenden Kaliumkonzentration in der Auskochflüssigkeit können wir auf die durchschnittliche intrazelluläre Kaliumkonzentration umrechnen. Verfälschungen des Ergebnisses durch extrazelluläre Flüssigkeitsanteile werden durch Inulinraumbestimmung berücksichtigt.

D) Operationsmethode zur Erzeugung einer experimentellen Niereninsuffizienz durch Ureterligatur.

Wir narkotisieren 160 - 240 g schwere Rattenweibchen mit einer subcutanen Gabe von 1,2 ml 3%igem Avertin pro 100 g Lebendgewicht und durchtrennen das Fell auf der Bauchseite mit einem Medianschnitt. Anschließend eröffnen wir mit einem zweiten Schnitt durch die darunterliegende Bauchmuskulatur und das Peritoneum die Bauchhöhle. Man schiebt die Eingeweide vorsichtig mit einem Spatel zur Seite und präpariert die Ureteren wenig unterhalb ihres Abgangs aus dem Nierenbecken frei. Sie werden dann mit je zwei Seidenfadenligaturen abgebunden. Abschließend werden die einzelnen Schichten der Bauchdecke durch Einzelnähte

wieder miteinander verbunden.

Die durch dieses experimentelle Verfahren erzeugte Niereninsuffizienz entspricht Serumharnstoffwerten von 350 - 650 mg% und führt innerhalb von 48 - 72 Stunden zum Tod.

IV. Ergebnisse:

Wir untersuchten die Zwerchfelle von insgesamt 43 Ratten. Die Berechnung der mittleren Streuung und Signifikanzen erfolgte nach STUDENT (s.GEIGY, 1960).

Abb. 5, Tab. 1a und 1b: Das Gewebswasser nahm bei den Zwerchfellen der gesunden Tiere 75,4 % vom Muskelfeuchtgewicht ein ($s = \pm 1,4$), während die ureterligierten Ratten einen Mittelwert von 78,3 % ($s = \pm 2,2$) zeigten. Die Differenz ist mit $2 p < 0,001$ statistisch signifikant.

Abb. 6, Tabl. 1a und 1b: Die Zwerchfelle der gesunden Ratten zeigten bei Kaliumkonzentrationen in der Badelösung von 1,9 mval/l, 5,7 mval/l und 8,1 mval/l mittlere intrazelluläre Kaliumkonzentrationen von 142,8 mval, 155,5 mval und 157,7 mval Kalium pro Liter Zellwasser. Demgegenüber zeigten die ureterligierten Ratten bei extrazellulären Kaliumspiegeln von 2,1 mval/l, 6,3 mval/l und 8,4 mval/l Intrazellularwerte für Kalium von 118,5 mval, 121,7 mval und 142,5 mval pro Liter Zellwasser. Die Zellkaliumwerte nahmen also mit steigendem Kaliumspiegel in der Badelösung zu und lagen bei den niereninsuffizienten Tieren niedriger als bei den gesunden.

Abb. 7, Tab. 2: Bei Kaliumkonzentrationen in der Badelösung von 2,05 mval/l, 3,75 mval/l und 9,5 mval/l trafen wir bei den Zwerchfellen der ureterligierten Ratten mittlere Ruhepotentiale von 93,7 mV, 76,2 mV und 62,3 mV an.

Abb. 8, Tab. 3a und 3b: Bei extrazellulären Kaliumkonzentrationen von 7,8 mval/l - 8,5 mval/l ergaben die Messungen an den Zwerchfellen der ureterligierten Ratten eine mittlere Schwellenreizstromstärke von $4,70 \cdot 10^{-8}$ Amp. Der entsprechende Mittelwert gesunder Tiere war statistisch signifikant größer ($0,01 < 2p < 0,005$) und lag bei $7,62 \cdot 10^{-8}$ Amp. - Die mittlere Schwellenreizstromstärke nahm bei den gesunden wie auch bei den niereninsuffizienten Tieren mit kleiner werdender extrazellulärer Kaliumkonzentration ab, es zeigten sich aber sonst keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen einander entsprechenden Werten gesunder und ureterligierter Ratten.

Abb. 9, Tab. 3a und 3b: Unter physiologischen Bedingungen nahmen die Zeitkonstanten τ_{s1} (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung) mit steigendem Kaliumspiegel in der Badelösung ab; und zwar lagen die Mittelwerte bei 2,01 msec (für $[K^+]_e = 1,85 \text{ mval/l} - 2,05 \text{ mval/l}$), 1,28 msec (für $[K^+]_e = 5,65 \text{ mval/l} - 6,3 \text{ mval/l}$) und 0,91 msec (für $[K^+]_e = 7,8 \text{ mval/l} - 8,5 \text{ mval/l}$). Für die Bedingungen der experimentellen Niereninsuffizienz ließ sich diese Beziehung nur z.T. bestätigen: für den genannten Bereich mit den "mittleren" Kaliumkonzentrationen fanden wir eine mittlere Zeitkonstante von 1,27 msec und im Bereich der "niedrigsten" und "höchsten" (s.o.) $[K^+]_e$ -Werte größte Werte, nämlich von 2,93 msec, bzw. 1,34 msec. Nur bei den niedrig- und hochkaliumkonzentrierten Lösungen zeigten die ureterligierten Ratten statistisch signifikant längere Zeitkonstanten. ($0,02 > 2p > 0,01$, bzw. $0,01 > 2p > 0,005$)

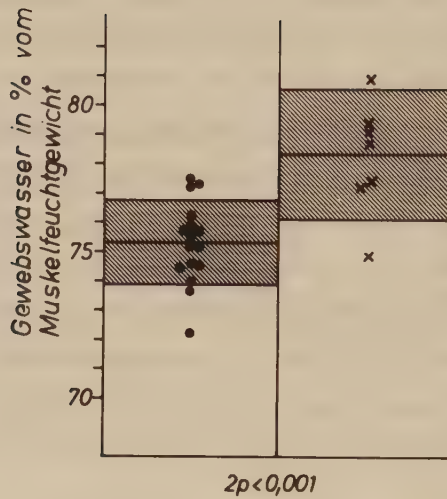


Abb. 5: Änderungen des Gewebswassergehaltes von Zwerchfellmuskulatur der Ratte unter dem Einfluß einer experimentellen Niereninsuffizienz.

● gesunde Tiere

× Tiere mit experimenteller Niereninsuffizienz

Die Zwerchfelle befanden sich 40 - 70 Minuten in den Badelösungen.

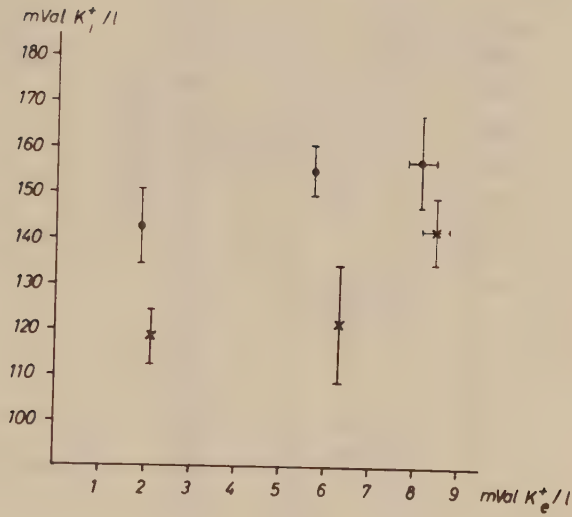
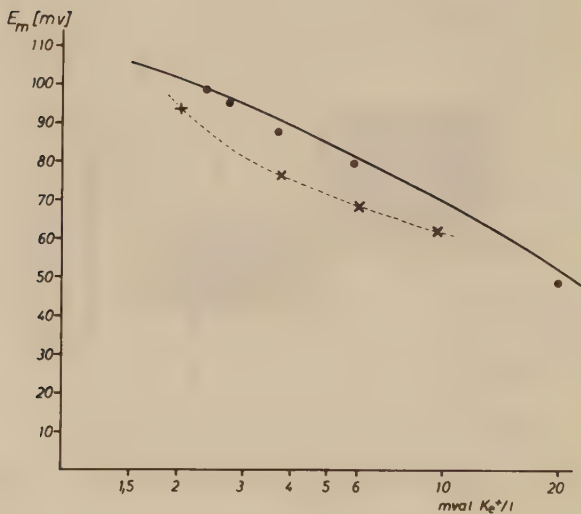


Abb. 6: Messungen der intrazellulären Kaliumkonzentration der Muskulatur des Rattenzwerchfells in Abhängigkeit von der extrazellulären Kaliumkonzentration.

● gesunde Tiere

× Tiere mit experimenteller
Niereninsuffizienz.



ab. 7: Messungen des Ruhepotentials einzelner Muskelzellen des Rattenzwerchfells in Abhängigkeit von der extrazellulären Kaliumkonzentration (unter Mitverwertung der Meßergebnisse von RÖHL (1964) und HAUGG (1964)).

● gesunde Tiere

x Tiere mit experimenteller
Niereninsuffizienz

Die ausgezogene Linie entspricht der HODGKIN-HOROWICZ-Beziehung (Gl.3, S.6) für $p_{Na} = 0,01$. Die gestrichelte Linie verbindet die bei Ratten mit experimenteller Niereninsuffizienz gefundenen Werte.

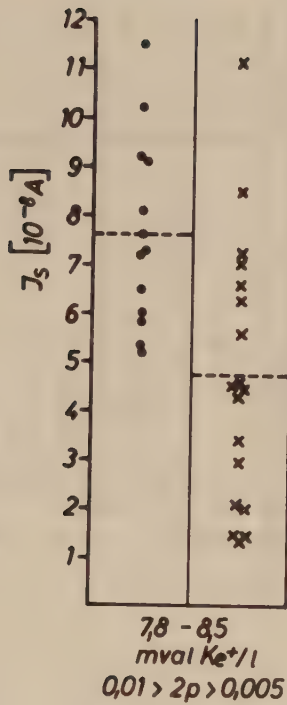


Abb. 8: Messungen der Schwellenreizstromstärke einzelner Muskelzellen des Rattenzwerchfells bei einer extrazellulären Kaliumkonzentration zwischen 7,8 und 8,5 mval/l Badelösung

• gesunde Tiere ✕ Tiere mit experimenteller Niereninsuffizienz.

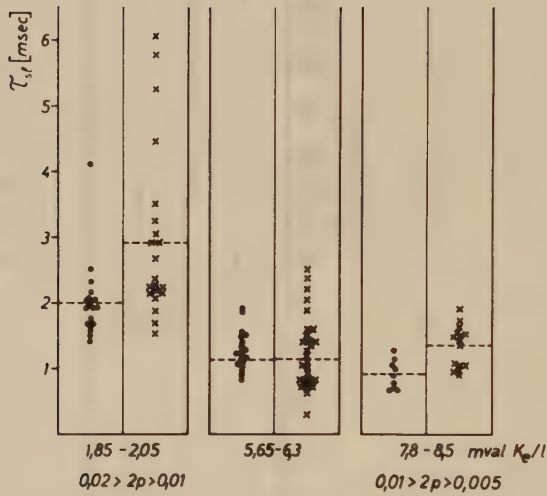


Abb. 9: Messungen der Zeitkonstante τ_{sl} (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung) einzelner Muskelzellen des Rattenzwerchfells in Abhängigkeit von der extrazellulären Kaliumkonzentration.

• gesunde Tiere

× Tiere mit experimenteller
Niereninsuffizienz.

Tabelle 1a

Z w e r c h f e l l e g e s u n d e r R a t t e n

Datum	Protokoll- seite	$[K^+]_i$	$[K^+]_e$	Gewebswasser
22.5.65	20	142,0	1,90	75,6
22.5.65	24	158,3	1,90	74,0
29.5.65	35	138,7	1,85	77,5
29.5.65	38	140,6	1,85	77,4
29.5.65	40	134,6	1,85	75,9
15.2.66	216	133,0	2,05	75,2
15.2.66	216	147,6	2,05	76,3
15.2.66	217	147,6	2,05	77,3
Mittelwerte:		$142,8 \pm 8,2$	$1,9 \pm 0,03$	
14.2.66	215	151,9	5,7	75,8
14.2.66	215	159,1	5,7	72,3
Mittelwerte:		$155,5 \pm 5,1$	5,7	
10.6.65	53	159,3	8,5	74,6
7.7.65	84	152,6	7,8	75,7
7.7.65	91	154,4	7,8	75,2
18.2.66	218	143,4	8,3	74,6
18.2.66	218	169,5	8,3	74,5
23.2.66	219	167,1	7,8	73,7
Mittelwerte:		$157,7 \pm 9,7$	$8,1 \pm 0,3$	75,4 (s = $\pm 1,4$)

Tabelle 1b

Z w e r c h f e l l e u r e t e r l i g i e r t e r R a t t e n

Datum	Protokoll- seite	$[K^+]_i$	$[K^+]_e$	Gewebswasser
11.5.66	229	114,2	2,1	79,2
11.5.66	229	122,8	2,1	78,7
Mittelwerte:		118,5 $\pm$ 6,1	2,1	
14.11.65	157	112,2	6,3	80,9
14.11.65	162	131,1	6,3	79,4
Mittelwerte:		121,7 $\pm$ 12,9	6,3	
26.7.65	119	142,8	7,5	74,9
7.8.65	131	135,4	8,2	77,5
9.12.65	190	149,4	9,5	77,3
Mittelwerte:		142,5 $\pm$ 7,5	8,4 $\pm$ 0,3	78,3 (s = $\pm$ 2,2)

Tabelle 2

Ruhepotentialmessungen an Zwerchfellen
ureterligierter Ratten

Datum	Protokoll- seite	$[K^+]_e$ mval/l	E_m -Mittelwerte einzelner Ratten mV	n	s
15.2.66	250	2,05	87,5	2	$\pm 0,4$
15.2.66	245	2,05	86,0	6	$\pm 0,3$
15.2.66	242	2,05	99,1	11	$\pm 0,4$
Mittelwert aller Einzelmessungen:			93,7	19	$\pm 7,8$
13.12.65	195	3,75	73,6	41	$\pm 10,7$
13.12.65	196	3,75	79,3	35	$\pm 12,7$
Mittelwert aller Einzelmessungen:			76,2	76	$\pm 11,9$
9.12.65	188	9,5	59,9	35	$\pm 7,0$
9.12.65	190	9,5	65,5	55	$\pm 7,3$
14.12.65	197	9,5	53,8	11	$\pm 7,3$
Mittelwert aller Einzelmessungen:			62,3	101	$\pm 8,1$

Tabelle 3a

Z w e r c h f e l l e g e s u n d e r R a t t e n

Datum	Protok. Seite	$[K^+]_e$ mval/l	I_{s-8} 10^{-8} Amp	n	s	τ_{sl} msec	n	s
22.5.65	17	1,9	2,62	7	$\pm 1,56$	2,10	5	$\pm 0,25$
22.5.65	20	1,9	1,60	6	$\pm 0,61$	2,44	4	$\pm 1,18$
22.5.65	24	1,9	2,62	2	$\pm 1,80$	1,98	2	$\pm 0,06$
29.5.65	35	1,85	1,74	5	$\pm 0,44$	1,67	2	$\pm 0,00$
29.5.65	38	1,85	4,09	4	$\pm 0,21$	1,71	2	$\pm 0,07$
29.5.65	40	1,85	2,16	5	$\pm 1,77$	1,79	4	$\pm 0,32$

Mittelwerte aller Einzelmessungen:

2,38 29 $\pm 1,4$ 2,01 19 $\pm 0,6$

16.6.65	58	5,85	1,59	3	$\pm 0,15$	1,06	4	$\pm 0,17$
15.7.65	125	5,65	4,96	8	$\pm 2,71$	1,37	7	$\pm 0,26$
15.7.65	122	5,65	1,57	2	$\pm 0,08$	0,82	1	$\pm 0,00$
21.10.65	154	5,85	3,23	4	$\pm 1,70$	1,23	2	$\pm 0,48$
17.11.65	165	6,1	1,98	4	$\pm 0,39$	1,46	4	$\pm 0,37$

Mittelwerte aller Einzelmessungen:

3,26 21 $\pm 2,3$ 1,28 18 $\pm 0,3$

10.6.65	51	8,5	9,63	3	$\pm 2,21$	0,77	1	$\pm 0,00$
10.6.65	53	8,5	7,07	6	$\pm 1,89$	1,06	4	$\pm 0,15$
7.7.65	84	7,8	7,11	3	$\pm 1,05$	0,68	3	$\pm 0,02$
7.7.65	91	7,8	6,46	1	$\pm 0,00$	1,13	1	$\pm 0,00$

Mittelwerte aller Einzelmessungen:

7,62 13 $\pm 2,0$ 0,91 9 $\pm 0,2$

Tabelle 3b

Z w e r c h f e l l e u r e t e r l i g i e r t e r R a t t e n

Datum	Protok. Seite	$[K^+]_e$ mval/l	I_{s-8} Amp	n	s	τ_{s1} msec	n	s
5.7.65	71	2,05	1,77	3	$\pm 1,57$	4,96	3	$\pm 1,66$
5.7.65	75	2,05	2,26	7	$\pm 1,47$	2,90	4	$\pm 0,50$
5.7.65	115	2,05	6,61	4	$\pm 2,26$	2,22	2	$\pm 0,17$
9.7.65	105	2,00	3,72	13	$\pm 3,24$	2,77	9	$\pm 1,30$
9.7.65	99	2,00	2,54	7	$\pm 1,36$	2,21	3	$\pm 0,02$
Mittelwerte aller Einzelmessungen:								
						3,35	34	$\pm 2,7$
14.8.65	140	5,95	4,88	6	$\pm 2,44$	1,10	4	$\pm 0,28$
16.10.65	146	5,8	3,05	9	$\pm 2,51$	0,81	8	$\pm 0,31$
14.11.65	157	6,3	6,10	6	$\pm 3,89$	1,02	5	$\pm 0,25$
14.11.65	162	6,3	2,89	4	$\pm 1,19$	1,44	4	$\pm 0,14$
25.11.65	168	5,95	3,31	4	$\pm 3,55$	1,89	3	$\pm 0,31$
25.11.65	172	6,0	4,00	4	$\pm 1,84$	2,31	3	$\pm 0,25$
Mittelwerte aller Einzelmessungen:								
						4,06	33	$\pm 2,8$
26.7.65	111	7,5	3,17	5	$\pm 1,44$	1,63	5	$\pm 0,20$
26.7.65	115	7,5	5,04	2	$\pm 0,74$	1,47	2	$\pm 0,07$
26.7.65	119	7,5	4,73	3	$\pm 2,05$	1,01	2	$\pm 0,03$
7.8.65	134	8,2	4,07	4	$\pm 3,11$	1,12	3	$\pm 0,31$
7.8.65	137	8,2	7,04	4	$\pm 3,85$	1,22	3	$\pm 0,26$
Mittelwerte aller Einzelmessungen:								
						4,70	18	$\pm 2,7$

V. Diskussion:

A) Messungen des Gewebswassers.

Da die Zwerchfellpräparate nach Entnahme aus der Badelösung immer in gleicher Weise nachbehandelt wurden, ist der extrazelluläre Flüssigkeitsanteil als konstant anzusehen. Deshalb ist die gegenüber dem Normalwert auffallende Vergrößerung des Gewebswassergehaltes bei niereninsuffizienten Ratten auf eine Zunahme des Zellwassers zurückzuführen.

B) Messung intrazellulärer Kaliumkonzentrationen bei gesunden Ratten.

1) Vergleich der Normalwerte mit Literaturangaben.

Die am Zwerchfell gesunder Ratten gemessenen intrazellulären Kaliumkonzentrationen stimmen mit anderen Befunden überein. So treffen RELMAN, GORHAM und LEVINSKY (1961) bei einer Kaliumkonzentration von 5,5 mval/l modifizierter Krebs-Ringer-Lösung einen Zellkaliumwert von 162 mval/l an ($s = \pm 6$); der von uns gefundene entsprechende Wert (bei einer extrazellulären Kaliumkonzentration von 5,7 mval/l) liegt mit 155,5 mval/l Zellwasser am unteren Rand des genannten Streubereichs. Darüber hinaus können wir mit Hilfe der HODGKIN-HOROWICZ-Gleichung (Gl. 3, S. 6) aus den gemessenen intrazellulären Kaliumkonzentrationen - eine relative Permeabilität der Zellmembran für Natrium-

ionen von $p_{Na} = 0,01$ wie auf Seite 6 vorausgesetzt -
Ruhepotentiale errechnen, die den von RÖHL (1964) ge-
messenen sehr nahe kommen (siehe Tabelle 4).

$[K^+]_e$	1,9	5,7	8,1 mval/l
$[Na^+]_e$	150,0	150,0	150,0 mval/l
$[K^+]_i$	142,8	155,5	157,7 mval/l
E_m (errechnet)	99,8	82,0	74,6 mV
E_m (tatsächlich)	101,0	81,0	71,0 mV
Differenz	1,2	1,0	3,6 mV

Tabelle 4: Vergleich von Ruhepotentialen bei gesunden Ratten. Die "tatsächlichen" Ruhepotentiale wurden an der Verbindung der in Abbildung 7 dargestellten RÖHL'schen Meßwerte bei den angegebenen $[K^+]_e$ -Werten abgelesen. Die "errechneten" Ruhepotentiale wurden mit Hilfe der Gleichung $E_m = 61,5 \cdot \lg \frac{[K^+]_i}{([K^+]_e + 0,01 \cdot [Na^+]_e)}$ gefunden.

2) Interpretation der Normalwerte.

Die Zunahme der Zellkaliumkonzentration mit dem Anwachsen des extrazellulären Kaliumspiegels kann auf das osmometerähnliche Verhalten der Zellmembran zurückgeführt werden. Änderungen von zellulären Elektrolytkonzentrationen können sich ja alleine auf Grund osmotischer Mechanismen einstellen, wenn sich Zell- und Serumosmolarität nur durch Wasserverschiebungen durch die semipermeable Zellmembran einander angleichen können. So führt eine Erhöhung der Serumosmolarität durch Infusion hypertotonischer Kochsalzlösung zu einer zellulären Wasserverarmung, wodurch sich die Zellosmolarität an die erhöhte Serumosmolarität angleicht (v.BUBNOFF und RIECKER, 1961). Auf unsere Experimente übertragen bedeutet dieser Befund, daß eine Zu- bzw. Abnahme der extrazellulären Kaliumkonzentration zu einem vermehrten Wasseraus- bzw. -einstrom führt, der seinerseits die beobachtete Kaliumkonzentrationsänderung im Zellinnern nach sich zieht.

C) Messung intrazellulärer Kaliumkonzentrationen bei Ratten mit experimenteller Niereninsuffizienz.

1) Vergleich der Befunde mit Literaturangaben.

Die bei niereninsuffizienten Ratten beobachtete Erniedrigung der Zellkaliumkonzentration gegenüber den ent-

sprechenden Werten von gesunden Ratten muß im Zusammenhang mit der gleichzeitigen Vermehrung des Zellwasser-gehaltes (s.o.) gesehen werden. Entsprechende Veränderungen wurden von v. BUBNOFF und RIECKER (1961) am Erythrozyten beobachtet: Im Vergleich zu den Normalbefunden zeigt sich bei Azidosen des Menschen (experimentelle NH_4Cl -Azidose und renale Azidose) eine Zunahme des zellulären Wassergehaltes bei gleichzeitig vermin-derter Kalium- und Natriumkonzentration im Zellinnern.

2) Interpretation der Befunde.

Bei der Deutung der zellulären Kaliumkonzentrationsab-nahme müssen wir zunächst an eine Verdünnung des ur-sprünglichen Kaliumbestandes durch das bei Nierenin-suffizienz gleichzeitig vermehrte Zellwasser denken. Ein reiner Verdünnungseffekt kann aber dem Befund nicht als einziger Faktor zu Grunde liegen. Wenn wir nämlich die Meßbeträge für das Gewebswasser als Maß für das intrazelluläre Wasservolumen betrachten, dann müßten sich die Gewebswassermengen der gesunden (75,4) und der niereninsuffizienten Ratten (78,3) zueinander verhalten umgekehrt wie die entsprechenden zellulären Elektrolyt-konzentrationen. Nun fanden wir beispielsweise bei dem Kollektiv gesunder Ratten, deren Zwerchfelle in einer Lösung mit einer Kaliumkonzentration von 5,7 mval/l äquilibriert wurden, einen Zellkaliumgehalt von 155,5 mval/l

Zellwasser. Dann müßte der aus der Gleichung $75,4 : 78,3 = [K^+]_i : 155,5$ zu berechnende Kaliumwert dem von niereninsuffizienten Ratten entsprechen. Wir errechnen 149,2 mval/l Zellwasser; die tatsächliche Konzentration ist aber viel niedriger anzusetzen; so trafen wir bei einer extrazellulären Kaliumkonzentration von 6,3 mval/l einen Zellkaliumwert von 121,7 mval/l an. Auch bei den Kollektiven gesunder und ureterligierter Ratten, die den höher und den niedriger kaliumkonzentrierter Spüllösungen zuzuordnen sind, lassen sich entsprechende Diskrepanzen zwischen gemessenem und errechnetem $[K^+]_i$ -Wert finden.

Deshalb müssen wir zur Deutung der bei Niereninsuffizienz eintretenden Verminderung der zellulären Kaliumkonzentration einen osmoseunabhängigen Kaliumverlust durch die Zellmembran vermuten. In diesem Sinne spricht der bei klinischer Niereninsuffizienz mit Azidose am Erythrozyten beobachtete Abtausch von zellulären Kaliumionen gegen Wasserstoffionen aus dem Extrazellulärraum (RIECKER, 1963). Im einzelnen ist dabei zu denken an eine Einflußnahme der Niereninsuffizienz außer auf den aktiven Ionentransport auf die passive Permeabilität der Zellmembran für Kaliumionen. In diesem Sinne sprechen Messungen des elektrischen Membranwiderstandes von BOLTE, MENNINGER und RIECKER (1966), die an Skelettmuskelfasern experimen-

tell niereninsuffizienter Ratten einen wesentlich niedrigeren Membranwiderstand als bei gesunden Tieren fanden ($69,35 \cdot 10^3$ Ohm gegenüber $97,8 \cdot 10^3$ Ohm). Da sich Widerstand und Permeabilität reziprok zueinander verhalten, spricht dieser Befund für eine Zunahme der Gesamtionenleitfähigkeit der Zellmembran. Nun ist zwar diese Membraneigenschaft eine Summengröße, die aus den Leitfähigkeiten für die einzelnen Ionenarten resultiert; deshalb darf die Widerstandsverminderung nicht auf eine Vergrößerung alleine der Kaliumleitfähigkeit zurückgeführt werden. Zusammen mit den genannten Intrazellulärmessungen von Kaliumionen gesehen, dürfen die Ergebnisse der Widerstandsmessung aber im Sinne einer Zunahme der absoluten Kaliumleitfähigkeit bei Niereninsuffizienz gegenüber Normalbedingungen ausgelegt werden.

D) Messungen des Ruhepotentials.

1) Normalwerte.

Im Zusammenhang mit unseren Messungen des Membranruhepotentials müssen wir Ergebnisse anderer Untersucher sehen. So zeigt RÖHL (1964), daß die an Skelettmuskelfasern gesunder Ratten erhobenen Meßwerte mit steigender extrazellulärer Kaliumkonzentration abnehmen und - eine relative Permeabilität der Zellmembran für Natriumionen von $p_{Na} = 0,01$ theoretisch vorausgesetzt -

der Beziehung von HODGKIN und HOROWICZ (Gleichung 3 auf Seite 6, in Abb.7 ausgezogene Linie) sehr nahe kommen. Deshalb betrachten wir die Ruhepotentialänderung, die sich bei gesunden Ratten mit einem Wechsel der extrazellulären Kaliumkonzentration einstellt, als Ausdruck einer intra/extrazellulären Elektrolytverschiebung, wohingegen Änderungen der relativen Permeabilitäten keine Rolle spielen (vergl. die entsprechenden Ausführungen über das Hypokaliämiesyndrom, S.16).

2) Befunde bei Ratten mit experimenteller Niereninsuffizienz.

Die an Skelettmuskelfasern experimentell niereninsuffizienter Ratten in Abhängigkeit von wechselnden Kaliumkonzentrationen gefundenen Ruhepotentiale liegen niedriger als die entsprechenden Werte gesunder Tiere. Wenn man unsere Meßwerte und den Befund von HAUGG (1964 : $E_m = 68,7 \text{ mV}$ bei $[K^+]_e = 5,9 \text{ mval/l}$) in Abhängigkeit von der extrazellulären Kaliumkonzentration zeichnerisch darstellt, erhält man eine Kurve (gestrichelt), die gegenüber der physiologischen Beziehung um einige mV nach kleineren Potentialen abweicht (siehe Abb.7).

Diese bei Niereninsuffizienz auftretende Hypopolarisation der Zellmembran läßt sich entsprechend der HODGKIN-HOROWICZ-Gleichung zum Teil auf die Abnahme des intra/extrazellulären Kaliumgradienten zurückführen. Im Gegensatz zu den an gesunden Ratten erhobenen Befunden reicht diese Veränderung zur Deutung der Hypopolarisation nicht

aus. Setzen wir nämlich unter der Annahme unveränderter relativer Permeabilitäten (also $p_{Na} = 0,01$) in die HODGKIN-HOROWICZ-Gleichung die bei Ureterligatur gefundenen jeweiligen intra- und extrazellulären Kaliumkonzentrationen ein, kommen wir auf Potentiale, die mit den Meßwerten nicht übereinstimmen, siehe Tab.5.

$[K^+]_e$	2,1	6,3	8,4 mval/l
$[Na^+]_e$	150,0	150,0	150,0 mval/l
$[K^+]_i$	118,5	121,7	142,5 mval/l
E_m (errechnet mit $p_{Na} = 0,01$)	93,4	73,4	71,3 mV
E_m (tatsächlich)	93,7	68,0	64,0 mV
Differenz	~0,0	5,4	7,3 mV
p_{Na} (errechnet)	~0,01	~0,02	~0,03

Tabelle 5: Vergleich von Ruhepotentialen bei Niereninsuffizienz. Die "tatsächlichen" Ruhepotentiale wurden an der gestrichelten Linie der Abbildung 7 bei den angegebenen $[K^+]_e$ -Werten abgelesen. Die "errechneten" Ruhepotentiale wurden mit Hilfe der Gleichung

$$E_m = 61,5 \cdot \lg [K^+]_e / ([K^+]_e + p_{Na} [Na^+]_e)$$

gefunden.

Dabei fällt auf, daß die Differenz zwischen errechnetem und tatsächlichem Potentialwert mit wachsender Kaliumkonzentration größer wird.

Dieser Befund läßt sich aus einer Änderung der relativen Permeabilitäten der Zellmembran für einzelne Ionenarten verstehen. Auf eine mögliche Zunahme der Kaliumleitfähigkeit bei Niereninsuffizienz ist schon oben hingewiesen worden; sie könnte mit dem genannten Befund ursächlich zusammenhängen. Da sich aber, wie in der HODGKIN-HOROWICZ-Gleichung zum Ausdruck kommt, an der Bildung des Ruhepotentials neben den Kalium- auch die Natriumionen beteiligen, müssen wir auch Änderungen des Permeabilitätsfaktors der Zellmembran für Natriumionen in Betracht ziehen. In der untersten Zeile von Tabelle 5 sind diejenigen Werte für p_{Na} angegeben, die man postulieren muß, wenn man die senkrecht über ihnen aufgeführten Meßwerte für $[K^+]_e$, $[Na^+]_e$, $[K^+]_i$ und E_m (tatsächlich) auf dem Boden der HODGKIN-HOROWICZ-Gleichung miteinander in Einklang bringen möchte. Es wird deutlich, daß die theoretischen Permeabilitätsfaktoren mit der extrazellulären Kaliumkonzentration ansteigen.

E) Messungen der Schwellenreizstromstärke.

1) Vergleich der Befunde mit Literaturangaben.

Die von uns bei extrazellulären Kaliumkonzentrationen

von 5,65 - 6,1 mval/l an gesunden und experimentell niereninsuffizienten Ratten gemessenen Schwellenreizstromstärken liegen im Streubereich der von RONNEBERGER (1966) angegebenen Werte ($3,63 \cdot 10^{-8}$ Amp bzw.

$3,72 \cdot 10^{-8}$ Amp, Streuung jeweils $s = \pm 1,2 \cdot 10^{-8}$ Amp).

Die von uns gefundene Korrelation zwischen Schwellenreizstromstärke und extrazellulärer Kaliumkonzentration (s. S. 29) wurde auch von JENERICK und GERARD (1953) am Frosch-Sartorius im Bereiche niedriger Ruhepotentiale (unter 65 mV) beobachtet.

2) Die Schwellenreizstromstärke bei niereninsuffizienten Tieren.

Die mittlere Schwellenreizstromstärke experimentell niereninsuffizienter Ratten ist auffälligerweise nur in demjenigen Bereich extrazellulärer Kaliumkonzentrationen statistisch signifikant kleiner als der entsprechende Kontrollwert gesunder Tiere ($2 p < 0,005$), in dem der in Tabelle 5 errechnete Permeabilitätsfaktor für Natriumionen am größten ist, nämlich bei Kaliumwerten von 7,8 bis 8,5 mval/l. Es liegt daher die Vermutung nahe, daß in diesem Bereich extrazellulärer Kaliumkonzentrationen eine Änderung der Natriumpermeabilität eine entscheidende ursächliche Rolle für die Veränderung der Schwellenreizstromstärke unter den Bedingungen der Niereninsuffizienz spielt.

F) Messungen der Zeitkonstante.

Die mit steigenden extrazellulären Kaliumkonzentrationen an Zwerchfellen gesunder Ratten gemessene Abnahme der Zeitkonstante τ_{sl} führen wir auf eine gleichzeitige Abnahme des elektrischen Membranwiderstandes zurück. Als experimenteller Anhalt für diese Vermutung gelten uns die Untersuchungen von JENERICK (1953), der eine solche Widerstandsänderung am Froschmuskel gemessen hat.

Wir fanden unter den Bedingungen der Niereninsuffizienz im Bereiche niedriger (1,85 - 2,05 mval/l) und hoher (7,8 - 8,5 mval/l) extrazellulärer Kaliumkonzentrationen eine gegenüber der Norm signifikant erhöhte Zeitkonstante τ_{sl} , siehe Abb.9. RONNEBERGER (1966) fand eine gleichsinnige signifikante Veränderung der Zeitkonstante auch bei mittleren Kaliumwerten (5,65 - 6,3 mval/l), nämlich 1,71 msec gegenüber 1,40 msec, während die entsprechenden Daten unserer Meßserie kaum voneinander abweichen; jedenfalls ist die Zeitkonstante von Muskelfasern ureterligierter Ratten unter dem Einfluß "mittlerer" Kaliumkonzentrationen nicht als erniedrigt anzusetzen.

Die Zeitkonstante ist mit Widerstand und Kapazität in Form der Gleichung $\tau = R \cdot C$ verknüpft, vergl. S.11. Da bei Niereninsuffizienz die Zeitkonstante (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung) unter dem Einfluß "mittlerer" Kaliumkonzentra-

tion normal bzw. vergrößert und der elektrische Membranwiderstand ("input resistance") gegenüber dem Normalwert erniedrigt ist (BOLTE, MENNINGER und RIECKER, 1966), halten wir eine niereninsuffizienzbedingte Zunahme der Membrankapazität für möglich. Die Membrankapazität ist eine an die räumliche Struktur der Zellmembran gebundene elektrische Größe (SHANES, 1958). Eine Zunahme des Zellvolumens, wofür unsere Messungen des Gewebswassers sprechen (siehe S. 28 und 40), zusammen mit der damit verbundenen mechanischen Dehnung der Zellmembran kann für solche Kapazitätsänderungen verantwortlich gemacht werden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG:

Die theoretischen Grundlagen und die Methodik der Einzelerfasserfunktionen wurden dargestellt.

Wir führten vergleichende Untersuchungen am isolierten Zwerchfell gesunder und experimentell niereninsuffizienter Ratten unter dem Einfluß verschiedener extrazellulärer Kaliumkonzentrationen durch und kamen zu folgenden Ergebnissen:

Die intrazelluläre Kaliumkonzentration nahm bei den Zwerchfellen gesunder Ratten mit der extrazellulären Kaliumkonzentration zu. Dies beruht auf dem osmometerähnlichen Verhalten der Zellmembran.

Bei extrazellulären Kaliumkonzentrationen von 2,1 mval/l, 6,3 mval/l und 8,4 mval/l betrugen die Zellkaliumwerte niereninsuffizienter Ratten 118,5 mval, 121,7 mval bzw. 142,5 mval pro Liter Zellwasser. Sie waren 24,3 mval/l, 33,8 mval/l bzw. 15,2 mval/l kleiner als die entsprechenden Kontrollwerte gesunder Ratten. Diese Befunde sind die Folge einer bei Niereninsuffizienz vergrößerten Kaliumleitfähigkeit der Zellmembran.

Bei extrazellulären Kaliumkonzentrationen von 2,05 mval, 3,75 mval und 9,5 mval pro Liter Badelösung betrugen die mittleren Ruhepotentiale niereninsuffizienter Ratten 93,7 mV, 76,2 mV und 62,3 mV. Sie nahmen mit steigender extrazellulärer Kaliumkonzentration ab und lagen jeweils einige mV

unter den Potentialen, die aus analogen Experimenten an gesunden Ratten für entsprechende Versuchsbedingungen bekannt sind. Die beobachtete Erniedrigung resultiert nur zum Teil aus der gemessenen Verminderung des zellulären Kaliumgehaltes. Als mögliche Ursache wird die Zunahme des Permeabilitätsfaktors p_{Na} der Zellmembran für Natriumionen besprochen. Unseren Berechnungen zufolge wächst die Natriumpermeabilität mit der extrazellulären Kaliumkonzentration.

Im Gegensatz zu niedrigeren extrazellulären Kaliumkonzentrationen war nur bei einem Kaliumwert von ca. 8 mval pro Liter Badelösung die mittlere Schwellenreizstromstärke niereninsuffizienter Ratten statistisch signifikant gegenüber dem entsprechenden Normalwert verändert; und zwar betrug sie $4,70 \cdot 10^{-8}$ Amp gegenüber $7,62 \cdot 10^{-8}$ Amp. Auch diesen Befund legen wir im Sinne einer mit steigender extrazellulärer Kaliumkonzentration immer mehr ins Spiel kommenden Membranpermeabilität für Natriumionen aus.

Die an Zwerchfellen gesunder Ratten gemessenen Zeitkonstanten (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung) nahmen mit steigender extrazellulärer Kaliumkonzentration ab. Gleichzeitig nahmen die Schwellenreizstromstärken zu. Beide Ergebnisse resultieren aus einer mit wachsender extrazellulärer Kaliumkonzentration auftretenden Verminderung des elektrischen Membranwiderstandes.

Bei mittleren Kaliumkonzentrationen von 2,0 mval und 8,0 mval pro Liter Badelösung betrugen die Mittelwerte der an ureterligierten Ratten gemessenen Zeitkonstanten (Stromstärke/Latenzzeit-Beziehung) $2,93 \pm 1,4$ msec und $1,34 \pm 0,3$ msec. Sie waren statistisch signifikant um 0,92 msec bzw. 0,43 msec größer als die entsprechenden Kontrollwerte gesunder Ratten. Als mögliche Ursache für diesen Befund vermuten wir eine bei Niereninsuffizienz vergrößerte elektrische Membrankapazität.

VII. LITERATURVERZEICHNIS:

- BLAIR, H.A.: On the intensity-time relations for stimulation by electric currents,
I.Proc.Soc.Exp.Biol.and Med., 29, 615 (1932).
- BOLTE, H.D., H. MENNINGER u. G. RIECKER: Auswirkungen einer experimentellen Niereninsuffizienz auf den zellulären Widerstand ("input resistance") einzelner Skelettmuskelzellen,
Akt.Probl.Nephrol.,
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York, 496-499 (1966).
- BORNSTEIN, I.N. und K.A. SEMENDJAJEW: Taschenbuch der Mathematik,
Verl.Harrl Deutsch, Zürich u. Frankfurt/M., 378 (1966).
- V.BUBNOFF, M. und G. RIECKER: Zellosmolarität und Wassergehalt,
Kli.Wo. 39, 724-733 (1961).
- BURKHARDT, D.: Die Übertragungseigenschaften elektrophysiologischer Versuchsanordnungen,
Z.Biol. 109, 297-324 (1957).
- COMAR, C.L. and F. BRONNER: Mineral Metabolism,
Vol. II Pt.A, Academic Press,
New York and London, 59 (1964).
- CONWAY, E.J. u. D. HINGERTY (1946) zit.n. HARRIS, E.J.: Transport and accumulation in biological systems,
Butterworths scientific publications,
London (1960).
- ELKINTON, J.R. and T.S. DANOWSKI: The body fluids,
Baltimore: Williams & Wilkins Co. (1955).
- FRANK, K. and M.G.F. FUORTES: Stimulation of spinal motoneurons with intracellular electrodes,
J.Phys.(Lond.) 134, 451-470 (1956).
- GEIGY AG., J.R.: Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen,
Basel (1960).
- GIEBISCH, G.L., BERGER, L. und PITTS, R.F.: The extrarenal response to acute acid-base disturbances of respiratory origin.,
J.clin.Invest. 33, 231 (1954).
- HAUGG, A.: Messungen des Membranpotentials einzelner Skelettmuskelzellen bei experimenteller Niereninsuffizienz sowie unter dem Einfluß pathologischer Kreatinin-, Milchsäure-, Calcium- und Magnesiumkonzentrationen,
Inaug.Diss.München (1964).

- HODGKIN, A.L. and P. HOROWICZ: The influence of potassium chloride ions on the membrane potential of single muscle fibers, *J.Physiol.* 148, 127-160 (1959).
- JENERICK, H.P.: Muscle membrane potential, resistance and external potassium chloride, *J. of Cell. and Comp. Phys.* 42, 428-448 (1953).
- JENERICK, H.P. und R.W. GERARD: Membrane potential and threshold of single muscle fibers, *J. Cell. and Comp. Physiol.* 42, 79-102 (1953).
- LING, G. and R.W. GERARD: The normal membrane potential of frog sartorius fibers, *J.cell.comp.Physiol.* 34, 383-396 (1949).
- RAMSEY, R.W.: Some Aspects of the Biophysics of Muscle, in: *Structure and Function of Muscle*, Band II, Academ.Press New York and London, 303-305 (1960).
- RELMAN, A.S., G.W. GORHAM und N.G. LEVINSKY: The relation between external potassium concentration and the electrolyte content of isolated rat muscle in the steady state, *Clin.Invest.* 40, 390 (1961).
- RIECKER, G.: Einteilung der Störung des Wasser- und Elektrolytstoffwechsels, *Internist* 11, 601-611 (1961).
- RIECKER, G.: Kationenverteilung an Erythrozyten bei Azidose, *Kli.Wo.* 41, 184-189 (1963).
- RIECKER, G. und H.D. BOLTE: Die Erfassung zellulärer Elektrolytstörungen in der klinischen Medizin, *Rean.Org.Art.*, Paris 1, 113-121 (1964).
- RIECKER, G., H.D. BOLTE und M.v.BUBNOFF: Ein Verfahren zur Messung von Einzelfaserpotentialen menschlicher Muskelzellen in situ, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 277, 231-235 (1963).
- RIECKER, G., H.D. BOLTE und D.RÖHL: Hypokaliämie und Membranpotential, *Rean.Org.Art.*, Paris 1, 41-50 (1964).
- RÖHL, D.: Messungen des Membranpotentials einzelner quer-gestreifter Muskelfasern in situ bei Normalpersonen und bei Patienten mit Niereninsuffizienz sowie am isolierten Rattenzwerchfell in vitro unter dem Einfluß pathologischer Harnstoffkonzentrationen, *Inaug.Diss. München* (1964).

- RONNEBERGER, A.: Änderungen von Schwellenreizstromstärke und Zeitkonstante einzelner Skelettmuskelzellen unter dem Einfluß einer experimentellen Niereninsuffizienz. - Untersuchungen am isolierten Rattenzwerchfell in vitro, Inaug.Diss. München (1966).
- SHANES, A.M.: Electrochemical aspects of physiological and pharmacological action in excitable cells, Pharmacol.Rev. 10, 198-208, 237 (1958).
- TASAKI, I.: Conduction of the nerve impulse, in Handbook of Physiology, Section: Neurophysiology I, Washington, D.C. 85, Americ. Physiol.Soc.(1959).
- WESTPHAL, W.H.: Kleines Lehrbuch der Physik, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer (1953).
- WHITFIELD, I.C.: An introduction to electronics for physiological workers. London, Macmillan & Co Ltd. 16-21 (1960).

Lebenslauf:

Am 7. Januar 1942 kam ich als Sohn des Paul Menninger und seiner Ehefrau Maria, geb. Ennenbach in Innsbruck zur Welt. Dort verbrachte ich die ersten Jahre meiner Kindheit. Nach dem Kriege siedelte unsere Familie nach Bonn über. Dort besuchte ich nach vier Jahren Volksschule von 1952 bis 1955 die Freiherr vom Stein-Realschule und wechselte dann auf die Ernst Moritz Arndt-Schule, ein mathematisch-naturwissenschaftliches Gymnasium über, an dem ich im Februar 1961 das Abitur ablegte. Im Sommersemester 1961 nahm ich an der Universität in Bonn das Medizinstudium auf. Die naturwissenschaftliche Vorprüfung bestand ich im März 1962, die ärztliche Vorprüfung im August 1963. Das klinische Studium absolvierte ich an der Universität in München. Dort bestand ich im Juni 1967 das medizinische Staatsexamen.

